

\*\*\*\*\*  
\* 专论与综述 \*  
\*\*\*\*\*

## 煤的微生物液化

袁红莉 陈文新

(中国农业大学生物学院 北京 100094)

煤是由大量植物残体经过成千上万年分解、聚合而成,是我们的主要能源之一。但煤的直接利用伴随许多环境问题,如煤燃烧过程会释放硫化物及氮化物废气,特别是一些劣质煤如褐煤。近年来煤的清洁<sup>[1,2]</sup>(包括脱硫、脱氮及去灰分)和煤的加工(如气化、液化及解聚)越来越受到重视。随着世界石油贮量的日益减少,液化煤作为替代石油受到极大重视,并已在一些发达国家如西德、日本获得成功。自1982年美国科学家Cohen和Gabriele首次报道了两株担子菌 *Polyporus versicolor* 和 *Poria monticolor* 能将美国北达科他州的褐煤转化成黑色液体这一现象<sup>[3]</sup>开始,许多科学工作者开始探索用微生物来加工煤—主要是用微生物或微生物酶清洁、液化煤,尤其是一些低能量煤<sup>[4-8]</sup>。煤的生物加工与化学加工相比具有明显的优点:生物加工可以在比较温和的条件下(25℃~50℃,常压)完成<sup>[9]</sup>。许多研究者已相继分离、筛选出一系列能液化煤的细菌、放线菌和真菌,与此同时对微生物液化煤的机制也做了初步探索。本文就目前煤的微生物液化方面的研究现状作以综合介绍,以供参考。

### 1 已分离、鉴定能液化煤的微生物

包括细菌、放线菌及真菌中的一些种属。细菌有 *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus*<sup>[10]</sup> 和 *Pseudomonas cepacia strain DLC-07*<sup>[11]</sup>; 放线菌有 *Streptomyces flavovirens*<sup>[12]</sup>, *Streptomyces viridosporus* (ATCC39115), *Streptomyces setonii* 75Vi2(ATCC39116) 和 *Streptomyces badius* 252(STCC39117)<sup>[13,14]</sup>; 真菌中的许多种据报道能将煤转变成黑色、水溶的多聚芳香物质。担子菌属中有 *Trametes versicolor*, *Polyporus versicolor*<sup>[3,15,16]</sup>, *Poria placenta*<sup>[3,16]</sup> 和 *Phanerochaete chrysosporium*<sup>[17-19]</sup>; 酵母菌中的一些种<sup>[20-22]</sup> 及丝状真菌中的 *Aspergillus* sp.<sup>[10]</sup>, *Aspergillus terreus*<sup>[20]</sup>, *Aspergillus terricola*, *Aspergillus ochraceus*<sup>[23]</sup>,

*Paecilomyces* spp.<sup>[20,21,24]</sup>, *Penicillium* spp.<sup>[6,20,22]</sup>, *Penicillium waksmanii*<sup>[20,21]</sup>, *Mucor* sp.<sup>[20]</sup>, *Mucor lausannensis*<sup>[20]</sup> 和 *Cunninghamella* sp.<sup>[22]</sup>。在这些种属中,青霉的液化能力较强。

### 2 微生物液化煤的机理

目前报道的主要有以下三种:1)微生物生长过程中产生的碱性中间物的作用。Strandberg和Lewis在1987年报道了放线菌 *Streptomyces setonii* 75Vi2能产生一种胞外物质在培养基中将煤液化形成黑色液体<sup>[14]</sup>。这种物质具有热稳定性,而且能抗蛋白酶,其分子量在1000至10000u之间。由此他们推定这种物质不是生物酶。后来他们又发现液化煤的量随培养基pH升高而增大,而培养基pH升高程度与培养基中所含多肽或多胺的量有关<sup>[27]</sup>。他们的结论在1988年为Gupta等人用同样的微生物所证实<sup>[28]</sup>。Quigley等人1989年测定了9种微生物对17种煤的液化能力<sup>[13]</sup>,他们的结论与上面的假设一致——即微生物液化煤是由于微生物生长过程中利用培养基中的多肽或多胺产生的碱性物质提高了培养基pH的缘故。2)微生物分泌的微生物酶的作用。Cohen等人在1987年报道了真菌 *Polyporus versicolor* 的培养液的滤液(0.45μm孔径滤膜)具有液化煤的活性<sup>[25]</sup>。这种活性与真菌培养的时间有关,且在滤液中检测到了蛋白,如用酸使蛋白变性则滤液液化煤的活性明显降低。他们的实验结论为微生物液化煤是一种生物酶作用过程提供了强有力的证据。同年Pyne等人用离子交换树脂及凝胶过滤的方法从具有液化风化褐煤作用的 *Coriolus versicolor* 培养物中分离并纯化了一种蛋白组分,这种组分对褐煤的液化既不是表面活性剂的作用也不是螯合剂的作用,60℃加热30min明显降低

国家自然科学基金资助项目 项目号:39370028

1996-07-15收稿

该组分液化煤的活性;丁香醛连氮氧化酶抑制剂同样能抑制该组分对褐煤的液化能力<sup>[15]</sup>。所以他们推测该组分具有丁香醛连氮氧化酶活性,正是这种酶参与了液化煤的过程。Pyne 等人在 1988 年又发现微生物胞外酶液化煤的过程是改变煤的结构产生一些羧化组分,这种胞外酶还具有一些漆酶的特性。但添加商品漆酶并不能明显增加液化煤的能力<sup>[29]</sup>。Wondrack 等人在 1989 年还发现由真菌 *Phanerochaete chrysosporium* 分泌的纤维素酶能将煤中高分子量聚合物液化降解成低分子量物质<sup>[19]</sup>。细胞中的 *Pseudomonas* 也被报道具有分泌胞外酶来液化煤的能力<sup>[23]</sup>。后来还相继发现许多水解酶,氧化酶及还原酶都能液化部分褐煤<sup>[30]</sup>,尤其是能氧化酚的酶具有较强的液化煤的能力。另外,如放线菌中的 *Streptomyces viridosporus*<sup>[31,32]</sup>、真菌中的白腐菌如 *Phanerochaete chrysosporium*<sup>[19,33]</sup>、细菌中的 *Pseudomonas*<sup>[30]</sup> 都能分泌的过氧化物酶具有很强的液化煤的活性。3)微生物分泌的螯合剂及表面活性剂的作用。Fredrickson 等人在 1990 年报道了真菌 *Trametes versicolor* 培养物中液化煤的因子是一种热稳定、低分子量 (<1000) 的胞外因子。这种因子液化煤的活性可被  $\text{Fe}^{3+}$  抑制,而且可以用铁螯合剂如 EDTA 等模拟<sup>[34]</sup>。由此他们提出微生物液化煤的机制是分泌螯合剂螯合煤中的铁等金属离子,从而改变煤的结构。Polman 等人的工作表明微生物分泌的生物表面活性剂能象化学合成的表面活性剂如 Tween 80 液化部分褐煤<sup>[35,36]</sup>。表面活性剂主要是还原煤中的 N 和 S,但具体机理有待进一步研究。

### 3 微生物液化煤产品的特性

1982 年 Cohen 和 Gabriele 在对两株担子菌 *Polyporus versicolor* 和 *Poria monticolor* 液化美国北达科他州褐煤产生黑色液体的初始研究中就发现,经微生物液化产生的黑色液体与原褐煤的红外吸收光谱表现不同。主要是原褐煤中  $1600\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰移到  $1590\text{cm}^{-1}$  处<sup>[3]</sup>。Kitamura 等后来的研究也发现经一株青霉液化的风化煤与未经处理的煤及用过氧化氢氧化化的煤相比氧含量明显增高,灰分含量明显降低。用过氧化氢氧化化的煤灰分含量明显增大,氧含量降低。他们进一步对液化煤的红外吸收光谱特征研究表明经微生物液化的煤与未经处理的煤相比有两个显著变化:一个

是  $2920$  和  $2850\text{cm}^{-1}$  处吸收峰消失,另一个是  $1710\text{cm}^{-1}$  附近的吸收峰增强。前者主要是含甲基基团物质的吸收所引起,而后者是含羧基基团物质吸收所引起。由此他们推断煤中的甲基基团被氧化产生羧基基团。微生物液化的煤氧含量增大也说明这一变化过程<sup>[6]</sup>。Stewart 等发现经微生物处理的褐煤其碱提取物的分子量明显降低<sup>[22]</sup>。Wondrack 等在研究用白腐菌 *Phanerochaete chrysosporium* 处理美国北达科他州的褐煤及法国烟煤中同样发现经微生物液化降解其分子量明显降低<sup>[19]</sup>。Gupta 发现一株 *Pseudomonas* 对褐煤中大分子具有解聚和修饰作用<sup>[11]</sup>。这些结果说明微生物液化煤的过程能对煤中大分子进行解聚和修饰。

微生物液化煤不仅在工业上有应用前景,在农业及医药生产上也展示了广阔的应用前景:如微生物液化低能量煤获取腐植酸,尤其是高纯度、高质量的黄腐酸,所以目前这方面研究正在深入。

### 参 考 文 献

- [1] Torma A E, Olsen T M. Appl Biochem Biotechnol, 1988, 18:341~345.
- [2] Wang Y, Petersen J N, Kaufman E N. Appl Biochem Biotechnol, 1995, 54:437~447.
- [3] Cohen M S, Gabriele P D. Appl Environ Microbiol, 1982, 44:23~27.
- [4] Couch G R. Resources Conservation and Recycling, 1988,1:207~221.
- [5] Kaufman E N, Scott C D, Woodward C A, et al. Appl Biochem Biotechnol, 1995, 54:233~247.
- [6] Kitamura K, Ohmura N, Hiroshi S. Appl Biochem Biotechnol, 1993, 38:1~13.
- [7] Ackerson M D, Johnson N L, LE M, et al., Appl Biochem Biotechnol, 1990, 16 / 25:913~927.
- [8] 科技日报,1988,12月6日(第3版).
- [9] Kargi F, Strandberg G W. Appl Biochem Biotechnol, 1988, 18:339~340.
- [10] Maka A, Srivastava V J, Kilbane II J J, et al. Appl Biochem Biotechnol, 1989, 20 / 21:715~729.
- [11] Gupta R K, Deobald L A, Crawford D L. Appl Biochem Biotechnol, 1990, 24 / 25:899~911.
- [12] Moolick R T, Linden J C, Karim M N. Appl Biochem Biotechnol, 1989, 20 / 21:731~735.
- [13] Quigley D R, Ward B, Crawford D L, et al. Appl Biochem Biotechnol, 1989, 20 / 21:753~763.
- [14] Strandberg G W, Lewis S N. J Ind Microbiol, 1987,

- 1:371~375.
- [15] Pyne J W, Stewart D L, Fredrickson J, *et al.* Appl Environ Microbiol, 1987, 12: 2844~2848.
- [16] Reiss J. Appl Microbiol Biotechnol, 1992, 37:830~832.
- [17] Faison B D, Kuster T A. Biotechnol Bioeng Symp, 1986, 17:261~264. •
- [18] Scott C D, Lewis S N. Appl Biochem Biotechnol, 1988, 18:403~412.
- [19] Wondrack L, Szanto M, Wood W A. Appl Biochem Biotechnol, 1989, 20 / 21:765~780.
- [20] Ward B. Sys Appl Microbiol, 1985, 6:236~238.
- [21] Scott C D, Strandberg G W, Lewis S N. Biotechnol Prog, 1986,2:131~139.
- [22] Stewart D L, Thomas B L, Bean R M, *et al.* J Ind Microbiol, 1990, 6:53~59.
- [23] Hongli Yuan, Toyota K, Watanebe A, *et al.* Bulletin of Jap Soc Microbiol Ecol, 1994, 9(2):45~53.
- [24] Faison B D, Lewis S N. Appl Biochem Biotechnol, 1989, 20 / 21:743~752.
- [25] Cohen M S, Bowers W C, Aronson H, *et al.* Appl Environ Microbiol, 1987, 53:2840~2843.
- [26] Fujii S, Osawa Y, Sugimura H. Fuel, 1970, 49:68~75.
- [27] Strandberg G W, Lewis S N. Appl Biochem Biotechnol, 1988, 18:355~361.
- [28] Gupta R K, Spiker J K, Crawford D L. Can J Microbiol, 1988, 34:667~674.
- [29] Pyne J W, Stewart D L, Linehan J C, *et al.* Resources Conservation Recycling, 1988, 1:185~195.
- [30] Crawford D L, Nielsen E P. Appl Biochem Biotechnol, 1995, 54:223~231.
- [31] Zimmermann W. J Biotechnol, 1990, 13:119~130.
- [32] Spiker J K, Crawford D L, Thiel E C. Appl Microbiol Biotechnol, 1992, 37: 518~523.
- [33] Kirk T K, Farrell R L. Ann Rev Microbiol, 1987, 41:465~505.
- [34] Fredrickson J K, Stewart D L, Campbell J A, *et al.* J Ind Microbiol, 1990, 5:401~406.
- [35] Polman J K, Breckenridge C R, Stoner D L, *et al.* Appl Biochem Biotechnol, 1995, 54:249~255.
- [36] Polman J K, Miller K S, Stoner D L, *et al.* J Chem Tech Biotechnol, 1994, 61:11~17.